

## Th17 细胞及相关细胞因子在原发性胆汁性肝硬化患者的表达

杨 婧, 程 宇, 杨晋辉, 万岳梦, 李 艳  
(昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科, 云南 昆明 650101)

**[摘要]** 目的 观察 PBC 患者外周血 Th17/CD4<sup>+</sup>T 细胞相关细胞因子 (IL-17、IL23、IL21、IL6、TGF $\beta$ ) 的表达, 探讨 Th17/CD4<sup>+</sup>T 细胞在 PBC 发病中的作用. 方法 收集 26 例 PBC 患者 (PBC 组), 20 例 HBV 患者 (HBV 组) 和 20 例健康人群 (HC 组) 的外周血, 采用酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 测定 3 组患者血清 IL-17、IL-23、IL-21、IL-6、TGF $\beta$  的水平, 比较 3 组间的表达情况. 结果 PBC 患者血清 IL-17、IL-23、IL-21 的表达明显高于 HBV 患者和健康对照组 ( $P < 0.05$ ); PBC 组 IL-6、TGF $\beta$  表达明显高于健康对照组 ( $P < 0.05$ ), 而与 HBV 组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ). 结论 Th17/CD4<sup>+</sup>T 细胞及其分泌的特异细胞因子在 PBC 的免疫发病发挥着重要作用.

**[关键词]** 原发性胆汁性肝硬化; Th17/CD4<sup>+</sup>T 细胞; 细胞因子

**[中图分类号]** R575.2<sup>2</sup> **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 10-0079-03

## Th17 Cells and Expression of Related Cytokines in Patients with Primary Biliary Cirrhosis

YANG Jing, CHENG Yu, YANG Jin-hui, WAN Yue-meng, LI Yan  
(Dept. of Hepatobiliary Medicine, The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the serum profile of Th17-related cytokines (IL-17, IL23, IL21, IL6 and TGF $\beta$ ) in patients with primary biliary cirrhosis, so as to investigate the role of Th17 cells in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis (PBC). **Methods** Peripheral blood samples of 26 PBC patients, 20 HBV infected patients and 20 healthy subjects were collected. Serum levels of the abovementioned five Th17-related cytokines were determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The serum levels of IL-17, IL23 and IL21 in PBC group were significantly higher than those in HBV group or HC group ( $P < 0.05$ ); the serum levels of IL6 and TGF- $\beta$  were comparable between the PBC group and HBV group, while the serum levels of IL6 and TGF- $\beta$  were significantly higher in the PBC group than those in the HC group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Th17 cells and its related cytokines may play an important role in the development and progression of PBC.

**[Key words]** Primary biliary cirrhosis; Th17/CD4<sup>+</sup>T cells; Cytokines

原发性胆汁性肝硬化 (primary biliary cirrhosis, PBC) 是一种慢性自身免疫性肝病, 以进行性肝内胆汁淤积、血清中出现抗线粒体抗体 (anti-mitochondrial antibody, AMA) 尤其 M2 亚型为特征, 好发于中老年女性. 其确切病因至今尚不完

全清楚, 但已有许多证据表明, 自身反应性 T 细胞参与发病, 并对胆小管破坏起重要作用.

Th17 细胞是一种新发现的 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚型, 以分泌白介素 17 (IL-17) 为主要特征. 多种细胞因子参与 Th17 的分化和调控, 如白介素 1

**[基金项目]** 云南省卫生科技计划项目 (2011ws0106)

**[作者简介]** 杨婧 (1974~), 女, 云南大理市人, 医学硕士, 副主任医师, 主要从事自身免疫性肝病的临床及科研工作.

**[通讯作者]** 杨晋辉. E-mail: yangjing\_dl@163.com

(interleukin 1, IL-1)、IL-6、IL-17、IL-23 和转化生长因子 (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 等<sup>[1,2]</sup>。目前认为, Th17 细胞与 PBC 的发病有关, 但具体机制尚未阐明。本研究通过观察血清中参与 Th17 分化和调控的 IL-23、IL-21、IL-6、TGF- $\beta$  浓度, 探讨 Th17 在 PBC 发病中的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

2012 年 1 月至 2013 年 5 月昆明医科大学第二附属医院住院 PBC 患者 26 例, 诊断均符合 2000 年美国肝病学会的推荐的 PBC 诊断指南<sup>[3]</sup>, 均未使用过糖皮质激素、熊去氧胆酸或其他免疫抑制剂, 增强剂治疗。慢性乙型肝炎 (HBV) 患者 20 例, 诊断符合 2000 年全国传染病与寄生虫病学术会议修订的慢性肝炎诊断标准<sup>[4]</sup>。健康对照组 (HC) 20 例, 为昆明医科大学第二附属医院肝胆外科行肝部分切除的肝血管瘤者, 同时排外酒精性肝病和病毒性肝病等慢性肝病。各组临床资料详见表 1。

### 1.2 研究方法

采集研究对象外周静脉血 5 mL, 采用流式细胞术检测研究对象血 Th17/CD4<sup>+</sup>T 细胞的比值, 及 ELISA 方法检测 IL-17、IL-23、IL-21、IL-6、TGF- $\beta$  表达水平。常规检测研究对象外周血清中的 ALP、GGT 值。

### 1.3 统计学处理

应用 SPSS 软件包进行统计分析。计量资料以表示, 组间比较采用非参数秩和检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

结果表明: 与 HBV 组和 HC 组比较, PBC 组 IL-17、IL-23、IL-21、水平显著增高 ( $P < 0.05$ ), 差异有统计学意义; 与 HC 组比较, PBC 组和 HC 组 IL-6、TGF- $\beta$  表达水平增高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); PBC 组与 HBV 组比较, IL-6、TGF- $\beta$  表达水平似有增高, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); HBV 组与 HC 组比较, 仅 IL-6 增高明显, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。

表 1 研究对象基本资料 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Clinical data of patients ( $\bar{x} \pm s$ )

项 目	参考值	PBC ( $n = 26$ )	HBV ( $n = 20$ )	HC ( $n = 20$ )
年龄 (岁)	-	51 $\pm$ 9.76	39.75 $\pm$ 12.37	50.8 $\pm$ 15.4
性别 (男:女)	-	7:19	11:9	9:11
ALT (U/L)	7 ~ 40	146.23 $\pm$ 130.79	40.45 $\pm$ 28.45	25.2 $\pm$ 2.86
AST (U/L)	13 ~ 35	141.80 $\pm$ 165.94	36.2 $\pm$ 12.5	28.4 $\pm$ 3.8
ALP (U/L)	50 ~ 135	346.10 $\pm$ 216.59	95.15 $\pm$ 37.03	78.25 $\pm$ 19.31
GGT (U/L)	7 ~ 45	527.54 $\pm$ 471.51	33.75 $\pm$ 26.60	24.9 $\pm$ 2.77
TBIL ( $\mu\text{mol/L}$ )	5.5 ~ 25	72.48 $\pm$ 57.78	14.7 $\pm$ 5.72	10.8 $\pm$ 2.44

表 2 各组血清 Th17 相关细胞因子水平比较 [ $(\bar{x} \pm s)$ , pg/mL]

Tab. 2 Serum levels of Th17-related cytokines in each group [ $(\bar{x} \pm s)$ , pg/mL]

组 别	IL-17	IL-23	IL-21	IL-6	TGF- $\beta$
PBC 组	28.37 $\pm$ 5.37 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	116.36 $\pm$ 54.98 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	112.66 $\pm$ 50.79 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	26.29 $\pm$ 7.33 <sup><math>\Delta</math></sup>	875.55 $\pm$ 515.35 <sup><math>\Delta</math></sup>
HBV 组	20.79 $\pm$ 4.22 <sup><math>\Delta</math></sup>	71.623 $\pm$ 28.08	78.04 $\pm$ 22.67	22.08 $\pm$ 7.53	640.19 $\pm$ 78.07
HC 组	17.13 $\pm$ 4.29	66.40 $\pm$ 13.60	76.56 $\pm$ 19.57	13.31 $\pm$ 5.67	598.20 $\pm$ 279.50

与 HBV 组比较,  $*P < 0.05$ ; 与 HC 组比较,  $\Delta P < 0.05$ 。

## 3 讨论

Th17 在 IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-23 和转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)  $\beta$  作用下由初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞分化而来<sup>[5]</sup>, 可分泌多种细胞因子

如 IL-17、IL-21 和 IL-22 等。

本研究发现, PBC 患者 IL-17、IL23、IL21 明显高于 HBV 组及 HC 组, 差异有统计学意义, 而 HBV 组及 HC 组比较, 仅 IL-17 增高有统计学意义。

目前认为, IL-17 与炎症发展、免疫应答、免疫排斥等多种生物学活性有关。IL-23 是一种异二

聚体细胞因子, 它拥有 IL-12 的 p40 亚单元和独特的 p19 亚单元, 可通过 IL-12RB1 和 IL-23R 异二聚体受体复合物来发送信号. Lan<sup>[6]</sup>及邓日辉等<sup>[7]</sup>的研究表明在初始 T 细胞分化过程中, IL-23 可能直接诱导 Th17 细胞分化, 或在维持 Th17 细胞增殖中起重要作用. 与上述研究类似, 本研究中 PBC、HBV 组患者 IL-17 均增高, 提示 2 组患者皆处于炎症状态, 而 PBC 患者 IL-17、IL-23 明显高于 HBV 组及 HC 组, 提示 PBC 发病中 IL-23 可能促进 Th17 的分化、增值, 从而上调炎症因子 IL-17.

IL-21 也是 Th17 分泌的一种细胞因子, 徐笛<sup>[8]</sup>等对慢性乙型肝炎的研究表明在 HBV 感染的不同病程中, 炎症越明显 IL-17 和 IL-21 表达越强, 且 IL-21 表达强于 IL-17. 本研究中, PBC 患者 IL-21、IL-17 明显高于 HBV 组及 HC 组, 提示与慢性肝炎相比, 在 PBC 发病中肝脏内存在更明显的炎症过程, 并且 IL-17、IL-23、IL-21 在 PBC 的发病中可能发挥着更重要的作用.

IL-6、TGF- $\beta$  是调节 TH17 分化的 2 个重要细胞因子. Veldhoen<sup>[9]</sup>等研究发现 TGF- $\beta$  和 IL-6 是启动 Th17 细胞分化所必需的细胞因子, 只有在 IL-6 与 TGF- $\beta$  共同存在的情况下, 通过发挥协同作用才能大量诱导 Th17 细胞的生成. 朱焯等<sup>[10]</sup>的研究认为 TGF- $\beta$ 1 与 PBC 胆管上皮细胞损伤的严重程度以及纤维化的形成和进展具有密切关系. 本研究发现 PBC 患者的 IL-6、TGF- $\beta$  明显高于正常组, 而与 HBV 组相比, 无统计学差异; HBV 组与正常组比较, 仅 IL-6 增高有统计学差异. 提示 TGF- $\beta$  和 IL-6 参与了炎症调节, 但 TGF- $\beta$  在 PBC 炎症调节中可能作用更重要.

综上所述, 本研究发现 PBC 患者血清 IL-17、IL-23、IL-21、IL-6、TGF- $\beta$  水平明显增高, 提示 Th17 细胞参与了 PBC 的发病. 细胞因子 IL-17、IL-23、IL-21、IL-6、TGF- $\beta$  对 TH17 细胞分化、调控起重要作用. 但 TH17 在 PBC 发病

中与 TH1 及 Treg 细胞在发挥效应中的关系, 具体的作用机制仍需进一步研究.

#### [参考文献]

- [1] PARK H, LI Z, YANG X O, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(11):1 133 - 1 141.
- [2] VOLPE E, SERVANT N, ZOLLINGER R, et al. A critical function for transforming growth factor- $\beta$ , interleukin 23 and proinflammatory cytokines in driving and modulating human T(H)-17 responses [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(6):650 - 657.
- [3] HEATHEOTE E J. Management of primary biliary cirrhosis. the ameri can assoeiation for the study of liver diseases praectice guidelines[J]. *Hepatology*, 2000, 4:1 005 - 1 013.
- [4] 中华传染病寄生虫学分会, 肝脏病学分会, 病毒性肝炎防治方案 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2000, 8(6):324 - 329.
- [5] MIOSSEC, P., T. KOM AND V. K. Kuchroo, Interleukin-17 and type 17 helper T cells [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(9): 888 - 898.
- [6] LAN R Y, SALUNGA, T RSUNEYAMA K, et al. Hepatic IL-17 responses in human and murine primary biliary cirrhosis[J]. *J Autoimmun*, 2009, 32(1):43 - 51.
- [7] 邓日辉, 陈颖, 黄羽, 等. IL-1B、IL-6和IL-23对原发性胆汁性肝硬化患者Th17细胞形成的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2010, 26(5):440 - 452.
- [8] 徐笛, 薛冰, 徐红萍, 等. H B V 感染中Th17/Treg平衡调节及其相关细胞因子的表达[J]. *中国病原生物学杂志*, 2013, 8(4):310 - 314.
- [9] VELDHOEN M, HOCKING R J, ATKINS C J, et al. TGF beta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL- 17- producing T cells [J]. *Immunity*, 2006, 24(2):179 - 189.
- [10] 朱焯, 杨再兴, 梁艳, 等. 转化生长因子- $\beta$ 1在原发性胆汁性肝硬化患者血清中的表达及临床意义研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2007, 22(6):86 - 87.

(2014 - 07 - 21 收稿)